



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

**AÇÃO ANTINOCICEPTIVA DO CYCLO(GLY-PRO) SOBRE A DOR OROFACIAL
EM ROEDORES**

São Cristóvão-SE
Fevereiro/2014

BRENO FERREIRA BARBOSA

**AÇÃO ANTINOCICEPTIVA DO CYCLO(GLY-PRO) SOBRE A DOR OROFACIAL
EM ROEDORES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Odontologia, da Universidade Federal de Sergipe, para obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Waldecy de Lucca Junior
Co-orientador: Prof. Dr. Lucindo José Quintans Júnior

São Cristóvão-SE

2014

Dedico este trabalho aos meus pais,
Agáitalo e Vera Rosa, que
transformaram este meu ideal em um
objetivo concreto e possível.

AGRADECIMENTOS

Agradeço inicialmente a Deus, por ter me proporcionado saúde e inteligência para alcançar esta bênção.

Agradecimento especial aos meus pais, Agaítalo e Vera Rosa, pela confiança e dedicação, participando ativamente na minha formação profissional e como ser humano.

À minha grande família, pelo amor e apoio de sempre. Meus irmãos (Averlúcio e Ítalo), minhas avós (Mercedes e Berenice), meus tios e primos. Obrigado pela paciência e por terem transformado os poucos momentos que tivemos juntos em momentos maravilhosos, nestes últimos três anos.

Aos Professores-Doutores, por transmitirem a mim, seus conhecimentos e experiências da área acadêmica.

Ao orientador Prof. Dr. Waldecy de Lucca Júnior, pelos ensinamentos diários e nos seminários semanais, além do respeito e amizade que construímos ao longo destes anos, e agradeço também ao co-orientador Prof. Dr. Lucindo José Quintans Júnior, o qual juntamente com sua equipe do laboratório, teve participação importante na parte experimental da minha Dissertação. Agradeço também o Prof. Dr. Emiliano Barreto – UFAL, que através de estudos preliminares em seu laboratório, nos sugeriu e impulsionou a trabalhar/pesquisar com a substância Cyclo(Gly-Pro).

Aos amigos e colegas de mestrado, o meu muito obrigado. Nós formamos uma família e como toda família, cada um segue seu caminho, mas sempre havendo o carinho e o desejo de felicidade e realização profissional.

Ao coordenador do curso, Prof. Dr. André Luis e a todos funcionários da UFS.

Agradeço a todos que direto ou indiretamente participaram da minha formação profissional e consagração desta vitória!

“Só se pode alcançar um grande êxito quando nos mantemos fiéis a nós mesmos.”
(Friedrich Nietzsche)

RESUMO

Cyclo(Gly-Pro) (CGP) é um dipeptídeo que pode ser extraído do fungo *Rhizoctonia sp.* ou sintetizado. A *Rhizoctonia* é um gênero pertencente ao reino Fungi, cujos representantes habitam o solo endofítico de vários organismos vegetais. Dentre as plantas que possuem este fungo, merece destaque a aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolius* Raddi) que é utilizada popularmente para diferentes finalidades, incluindo inflamação. Desta forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar a possível ação antinociceptiva sobre dor orofacial do Cyclo(Gly-Pro) em roedores. Para tanto, foram utilizados 90 camundongos Swiss machos (25 a 35 g) com 2 a 3 meses. Os animais foram divididos em grupos e foram tratados com CGP nas concentrações de 0,1, 1 e 10 mg/kg administrados via intra-peritoneal (i.p.), controle (solução salina 0,9% , i.p.) ou droga padrão (i.p.). Com o intuito de avaliar a ação do CGP sobre a nocicepção orofacial, foram realizados os testes de dor orofacial induzida por formalina (2%), capsaicina e glutamato. A coordenação motora dos animais foi avaliada através do teste da movimentação espontânea. Os resultados foram expressos como média \pm E.P.M. As diferenças entre os grupos foram analisadas através do teste de variância ANOVA, uma via, seguido pelo teste de Tukey. Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes. Nos três testes de nocicepção orofacial, o CGP produziu uma redução significativa ($p < 0,001$) no tempo de fricção da região orofacial quando comparado ao grupo controle, além de haver diferença significativa entre alguns grupos ($p < 0,01$). Não foram observadas alterações motoras no teste da movimentação espontânea. Conclui-se, assim, que o CGP apresenta ação antinociceptiva e que no teste de movimentação espontânea, o CGP não foi capaz de alterar a coordenação motora dos animais, nas doses avaliadas.

Palavras-chave: *Rhizoctonia*, Dor, Dor Facial.

ABSTRACT

Cyclo(Gly-Pro)(CGP) is a dipeptide that can be extracted from the fungus *Rhizoctonia* sp. or synthesized. The *Rhizoctonia* is derived from the kingdom Fungi, whose representatives inhabiting endophytic soil organisms of various vegetables genre. Among the plants possessing this fungus, deserves mastic-red (*Schinus terebinthifolius* Raddi) which is popularly used for different purposes, including inflammation. Thus, the aim of this study was to evaluate the possible antinociceptive action on orofacial pain of Cyclo(Gly-Pro) in rodents. To this end, 90 male Swiss mice (25 to 35g) with 2 to 3 months were used. The animals were divided into groups and were treated with CGP concentrations of 0.1 , 1 and 10 mg / kg administered intraperitoneally (i.p.) , vehicle (0.9% saline solution, i.p.) or standard drug (i.p.) . In order to evaluate the effects of CGP on orofacial nociception tests orofacial pain formalin (2%), capsaicin and glutamate - induced were performed. The motor coordination of the animals was assessed by testing the spontaneous movement. Results were expressed as mean \pm SEM Differences between groups were analyzed using the analysis of variance ANOVA, one-way, and followed by Tukey test. P values < 0.05 were considered statistically significant. In the three nociceptive orofacial test, CGP produced a significant reduction ($p < 0.001$) in the orofacial region of friction time when compared to the control group, plus there is some significant difference between groups ($p < 0.01$). No changes were observed in the test of spontaneous movement. Thus, it is concluded that the CGP has antinociceptive and that the spontaneous movement test, the CGP was not able to alter motor coordination of animals in the doses evaluated.

Keywords: *Rhizoctonia*, Pain, Facial Pain

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 DOR.....	3
2.2 DOR OROFACIAL.....	8
2.3 PRODUTOS NATURAIS.....	9
3 PROPOSIÇÕES.....	13
3.1 GERAL.....	13
3.2 ESPECÍFICOS.....	13
4 METODOLOGIA.....	14
4.1 ANIMAIS.....	14
4.2 SUBSTÂNCIAS.....	14
4.3 TESTES OROFACIAIS DE ANTINOCICEPÇÃO.....	14
4.3.1 Teste de nocicepção orofacial induzida por Formalina.....	14
4.3.2 Teste de nocicepção orofacial induzida por capsaicina.....	15
4.3.3 Teste de nocicepção orofacial induzida por glutamato.....	16
4.4 AVALIAÇÃO DA COORDENAÇÃO MOTORA.....	17
4.4.1 Teste da movimentação espontânea.....	18
4.5 DESCARTES.....	18
4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	18
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	19
5.1 TESTES OROFACIAIS DE ANTINOCICEPÇÃO.....	19
5.2 AVALIAÇÃO DA COORDENAÇÃO MOTORA.....	23
6 CONCLUSÃO.....	25
REFERÊNCIAS.....	26
ANEXO 1: PROTOCOLO DE APROVAÇÃO NO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA ANIMAL DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE.....	36

1 INTRODUÇÃO

A Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP) utiliza como definição de dor, “uma experiência sensorial e emocional desagradável associada a dano tecidual real ou potencial”, sendo reconhecida como um problema de saúde pública, com importantes consequências físicas e psicológicas, com alto ônus social e econômico (AZEVEDO et al., 2012).

O recurso clínico mais eficaz no tratamento da dor é a terapia farmacológica. Dentre os medicamentos mais utilizados têm-se os opióides, drogas anti-inflamatórias não-esteroidais (AINEs), drogas miorelaxantes, analgésicos periféricos e os antidepressivos (DIONNE, 1997). No entanto, 40 a 60% dos pacientes não respondem a farmacoterapia, pois alguns tipos de dor podem ser refratárias a analgésicos comuns (XU et al., 2012; CLAUW; ARNOLD; MCCARBERG, 2011). Por este motivo, a pesquisa por novas propostas terapêuticas continua sendo uma constante busca dos pesquisadores em todo o mundo (SRINIVASAN et al., 2001).

A dor proveniente da região orofacial é um problema muito comum na sociedade moderna e pode ser considerada uma das mais importantes razões pelas quais a população procura tratamento nas clínicas odontológicas (SESSLE, 2000). No Brasil, indica-se que mais de 10 milhões de pessoas sofrem de algum tipo de dor na região orofacial (SBED, 2005).

Embora as dores orofaciais sejam muito comuns na população em geral, estudos que investiguem a ação de produtos naturais e seus derivados sobre essas dores são ainda escassos na literatura científica (MITTAL et al., 2009; QUINTANS-JÚNIOR et al., 2010). Neste contexto, surge a necessidade de pesquisar novos compostos bioativos de produtos naturais que tenham ação antinociceptiva sobre a dor orofacial.

Produtos de origem natural mostram-se como fontes promissoras para obtenção de substâncias com propriedades terapêuticas. Inúmeros estudos vêm sendo desenvolvidos com o objetivo de buscar elementos de origem natural de interesse terapêutico e que não apresentem os efeitos colaterais dos fármacos atualmente utilizados (WINK, 2003; PAIXÃO et al., 2007; QUINTANS-JÚNIOR et al., 2011).

Os microrganismos são fontes promissoras na busca de diversos metabólitos bioativos e têm originado importantes produtos para a indústria farmacêutica. Desta forma, vários esforços concentram-se na busca por fontes de fármacos ainda pouco exploradas. Neste contexto, os derivados de fungos endófitos mostram-se como ferramentas importantes para ampliar as chances de obtenção de novos agentes farmacologicamente ativos (BARROS et al., 2011).

Rhizoctonia solani é uma espécie pertencente ao Reino Fungi, da ordem Agonomycetales,

seus representantes habitam o solo e atuam como patógenos endofíticos de diversos organismos vegetais (ALFENAS e SILVEIRA, 2002). Dentre as plantas possuidoras deste fungo merece destaque a aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolius* Raddi), que é usada popularmente para diferentes finalidades, incluindo inflamações (LUCENA et al., 2006). O fungo endofítico *Rhizoctonia solani*, em sua fase telemórfica, produz uma vasta gama de substâncias incluindo, dipeptídeos cíclicos e vários ácidos orgânicos (PEDRAS et al., 2005).

O extrato deste fungo apresenta quantidades significativas de Cyclo(Gly-Pro), que é um dipeptídeo utilizado na recuperação e/ou melhora da memória. BARROS et al. (2011), pesquisaram a atividade antiinflamatória e antinociceptiva da fração metanólica (FM) obtida a partir da biomassa do fungo endofítico *Rhizoctonia solani*, que apontaram uma potente ação antiinflamatória e antinociceptiva desta fração metanólica. Contudo, o mesmo trabalho não avaliou a atividade antinociceptiva sobre a dor orofacial.

Baseado na literatura e levando-se em consideração que o uso de produtos naturais tem um papel importante na saúde mundial, uma vez que alguns dos medicamentos utilizados no tratamento de diversas patologias são de origem natural; e somando-se ao fato que nos produtos naturais habita a possibilidade da existência de diferentes compostos químicos que atuam em conjunto em determinado alvo molecular, o que pode possibilitar a ocorrência de menores efeitos colaterais ou secundários para o consumidor, tornam-se necessárias pesquisas voltadas para a descoberta e avaliação de substâncias naturais com potenciais terapêuticos.

Considerando-se, ainda, que, apesar das drogas analgésicas serem a maior categoria terapêutica, têm-se concentrado esforços na busca de compostos analgésicos com maior potencial terapêutico, maior seletividade e menores efeitos colaterais. Tendo por base este conjunto de informações e também o fato do CGP ser um composto bioativo originado do fungo *Rhizoctonia solani*, este trabalho objetivou avaliar a ação antinociceptiva do CGP sobre a dor orofacial, podendo-se, futuramente, o CGP se tornar uma entidade química promissora no desenvolvimento de novas propostas terapêuticas para o tratamento da dor e de outras nosologias que acometem o homem.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 DOR

A dor é um processo fisiológico indispensável ao indivíduo, sendo uma sensação desagradável, que varia desde desconforto leve, associada a um processo destrutivo real ou potencial aos tecidos (MOSSEY, 2011). É essencialmente uma manifestação subjetiva, variando a apreciação de um mesmo estímulo nocivo de indivíduo para indivíduo (VILELA FILHO, 1998).

Por outro lado, a nocicepção é definida como os mecanismos pelos quais os estímulos periféricos nocivos são transmitidos ao SNC, sem, no entanto, apresentar o componente subjetivo que é característico da dor (ALMEIDA e OLIVEIRA, 2006). Dentre os vários fatores que modificam esse componente afetivo e subjetivo, podemos citar o estado emocional, posição social, nível cultural, preferência religiosa, plano econômico-financeiro e fatores ambientais; esses alteram profundamente o significado que a experiência dolorosa pode causar (LEMONICA, 1997).

A dor pode ser classificada quanto sua duração e intensidade em dois tipos: aguda e crônica. A dor aguda é definida como uma dor de curta duração e auto-limitada, que pode se tornar persistente e intratável se o processo da doença subjacente ou lesão não for solucionada. Quando persiste por mais de três meses, essa dor é classificada como crônica (DUBOIS, GALLAGHER, LIPPE, 2009).

Outras classificações e modalidades de dor, além das já citadas, incluem a dor nociceptiva, a somática, a neuropática, a referida e a visceral. A nociceptiva é a forma de dor que surge como consequência da aplicação de estímulos que produzem dano ou lesão nos órgãos somáticos ou viscerais. Origina-se da ativação dos nociceptores. A dor somática tem origem na pele, músculos, articulações, ligamentos e ossos. Trata-se de uma dor bem localizada, circunscrita à área lesada e caracteriza-se por sensações claras e precisas (BRAUN-FILHO e BRAUN, 2004).

Doenças neurológicas que afetam as vias sensoriais podem produzir dor crônica severa, sendo essa então designada por dor neuropática. Esse tipo de dor, não está diretamente relacionada a qualquer lesão tecidual periférica. É decorrente de distúrbios do SNC, tal como na esclerose múltipla (RANG et al., 2007).

A dor visceral é a forma de dor que surge com mais frequência como consequência de enfermidades. É o sintoma comum na maioria das síndromes dolorosas agudas e crônicas de interesse clínico. É vaga, mal localizada e se estende além do órgão lesado. Pode ser referida em regiões distantes da víscera que a originou (BRAUN-FILHO e BRAUN, 2004).

Inúmeros estudos descrevem o papel fisiológico da dor: um “alarme” que tem a função de proteger o organismo ativando reações e induzindo comportamentos de precaução, que podem

diminuir o que estiver causando a dor e, como resultado, limitar os danos (ALMEIDA et al., 2004; WOOLF, 2000; MILLAN, 1999). LE BARS et al. (2001) estabelecem mais duas funções para a sensação de dor: avisar o indivíduo da probabilidade de que uma lesão tecidual está para ocorrer, por percepção de que certo estímulo pode causar dano tecidual e alertar um grupo de indivíduos de perigo assim que ele surge para um de seus membros. Assim que o mecanismo de alerta é estabelecido, a ameaça de dor pode provocar uma resposta comportamental generalizada, respostas endócrinas (secreção de corticosterona) e ativação simpática (levando a elevações de pressão sanguínea e batimentos cardíacos), que, juntos com uma antinocicepção transitória, auxiliam o melhoramento do desempenho dos repertórios comportamentais, permitindo o afastamento de situações de risco com mais sucesso (MILLAN, 1999).

As manifestações de dor podem ser entendidas com base nos substratos neurais que modulam as funções sensorial e afetiva: enquanto o sistema sensorial, perceptor, permite a localização espaço-temporal, a qualificação física e a intensidade do estímulo nocivo, o componente cognitivo-afetivo atribui emoções à experiência, sendo responsável pelas respostas comportamentais à dor. Assim, a dor tem uma conotação individual e sofre a influência de experiências anteriores (ALMEIDA et al., 2004).

As estimativas da prevalência de dor variam amplamente e normalmente entre 10 e 30% na população adulta, embora as taxas de prevalência variem de 2 a 55%. Esta variação pode ser reflexo das diferenças entre as populações e de divergências na definição e classificação de dor presente nos estudos epidemiológicos (BEKKERING et al., 2011; HARKER et al., 2012). A dor geralmente é mais comum em grupos etários mais velhos, grupos com menor renda e entre as mulheres (OHAYON, 2004; DEMYTTENAERE et al., 2006). Estima-se, por exemplo, que mais de 22% dos americanos com mais de 18 anos apresentam dor na região orofacial, prevalência esta que se repete em países como a Inglaterra e Alemanha. De forma geral, a dor orofacial possui uma prevalência de 13 a 26% (MIRANDA et al., 2012; NIXDORF et al., 2012; HARGREAVES, 2011).

Na sequência dos eventos que originam o fenômeno sensitivo doloroso, o primeiro passo é a transformação dos estímulos ambientais, físicos ou químicos intensos em potencial de ação, que são transferidos da fibra nervosa do sistema nervoso periférico (SNP) para o SNC (ALVES NETO, 2010).

A percepção dolorosa a um determinado estímulo nocivo tem como propósito biológico alertar o organismo sobre algum perigo no ambiente, incluindo a resposta comportamental de proteger o organismo contra possível lesão (CHENG et al., 2002). A transmissão da dor envolve uma interação complexa de estruturas centrais e periféricas desde a pele, vísceras ou outros tecidos até o córtex cerebral (FURST, 1999).

A nocicepção é uma forma especializada de sinalização sensorial, que converte informação sobre lesões teciduais (BARANAUSKAS e NISTRI 1998). Assim, enquanto a dor envolve a percepção de um estímulo aversivo e exige a capacidade de abstração e elaboração de impulsos sensoriais, a nocicepção refere-se às manifestações neurofisiológicas geradas pelo estímulo nocivo (ALMEIDA et al., 2004).

Os nociceptores são receptores para diversas substâncias algogênicas localizadas na membrana plasmática e que traduzem o sinal externo em potenciais de ação. Estes por sua vez, são prolongados ao longo dos axônios até o corpo celular no gânglio da raiz dorsal, bem como ao corno dorsal da medula espinhal (LEMKE, 2004).

Existem três tipos principais de fibras sensoriais no sistema nervoso periférico (SNP) envolvidos na nocicepção, as fibras A β , A δ e C, as quais possuem propriedades diferentes, o que lhes permite transmitir tipos diferentes de informação sensorial. As fibras A β são grandes em diâmetro e altamente mielinizadas, permitindo-lhes, assim, conduzir rapidamente potenciais de ação, sendo responsáveis por transmitir a informação tátil. As fibras A δ são menores em diâmetro e finamente mielinizadas, o que as torna mais lentas que a fibra A β , respondendo tanto a estímulos térmicos quanto a mecânicos. Já as Fibras C são amielinizadas, tornando-as fibras de condução lenta, sendo responsáveis por detectar estímulos dolorosos. Conjuntamente, as fibras A δ e C são denominadas de nociceptores, respondendo a estímulos nocivos, sejam eles mecânicos, térmicos ou químicos (Tabela 1) (RAJA, MEYER, CAMPBELL, 1988; BASBAUM et al., 2009; HUCHO e LEVINE, 2007).

Tabela 1. Características físicas das fibras aferentes nociceptivas

	A β	A δ	C
Diâmetro	6 a 12 μ m (mielinizadas)	1 a 5 μ m (mielinizadas)	0,2 a 1,5 μ m (Não mielinizadas)
Velocidade	35 a 75 m/s	5 a 30 m/s	0,5 a 2 m/s
Função	Tato	Temperatura e Nocicepção	Nocicepção

Adaptado de MARCHAND, 2008

A ativação dos nociceptores em resposta a estímulos nocivos leva à despolarização e geração de um potencial de ação que se propaga ao longo de toda a fibra (WOOLF e SALTER, 2000). Assim, quando um dano inicial (lesão ou induzido por inflamação) ativa os nociceptores locais, as fibras nervosas A δ e C ficam sensibilizadas e assumem limiares de ativação mais baixos. Estímulos nocivos que resultam em uma sensação de dor rápida, fina e bem localizada em geral refletem a

ativação de fibras A δ (que conduzem a designada dor primária) e a nocicepção difusa e lenta, em queimação, é elicitada por fibras C (dor secundária). A dor visceral é única no sentido de que não existem os componentes primário e secundário; ao contrário, a dor visceral frequentemente é pouco localizada, profunda e lenta. A lesão tecidual também não é fundamental para que a dor visceral exista; ela pode resultar de uma distensão excessiva (JULIUS e BASBAUM, 2001).

O corno dorsal da medula espinhal funciona como uma estação relé para a transmissão da dor. Os nociceptores chegam de maneira altamente organizada no corno dorsal da medula espinhal, com as fibras mielinizadas A δ terminando principalmente nas lâminas I e V e as fibras C, não mielinizadas, na lâmina II. A partir destas regiões, são acionados neurônios de projeção e interneurônios de segunda ordem na medula espinhal, sendo que alguns são ativados somente por estímulos nocivos (específicos para a nocicepção) e outros respondem a estímulos de alta ou baixa intensidade (limiar dinâmico e amplo). Esta conexão sináptica entre as fibras aferentes primárias e os neurônios do corno dorsal envolve neurotransmissores como o glutamato e a substância P, que são responsáveis pela produção de potenciais pós-sinápticos excitatórios rápidos e lentos, respectivamente (MILLAN, 1999; ver figura 1).

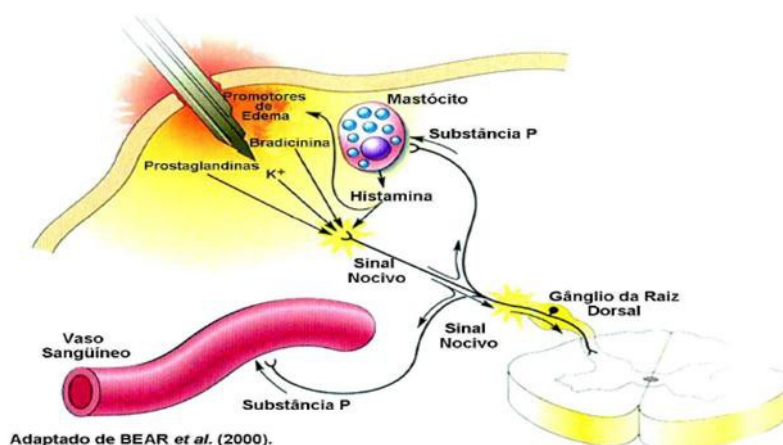


Figura 1: Via ascendente da nocicepção – primeira conexão.

Após a interação direta ou indireta com neurônios de projeção no corno dorsal, os axônios de neurônios de segunda ordem formam tratos aferentes que transmitem os impulsos nociceptivos para estruturas do tronco cerebral e diencefalo, incluindo o tálamo, substância cinzenta periaquedutal, região parabraquial, formação reticular da medula, complexo amigdalóide, núcleo septal e hipotálamo, entre outras (ALMEIDA et al., 2004, ver figura 2).

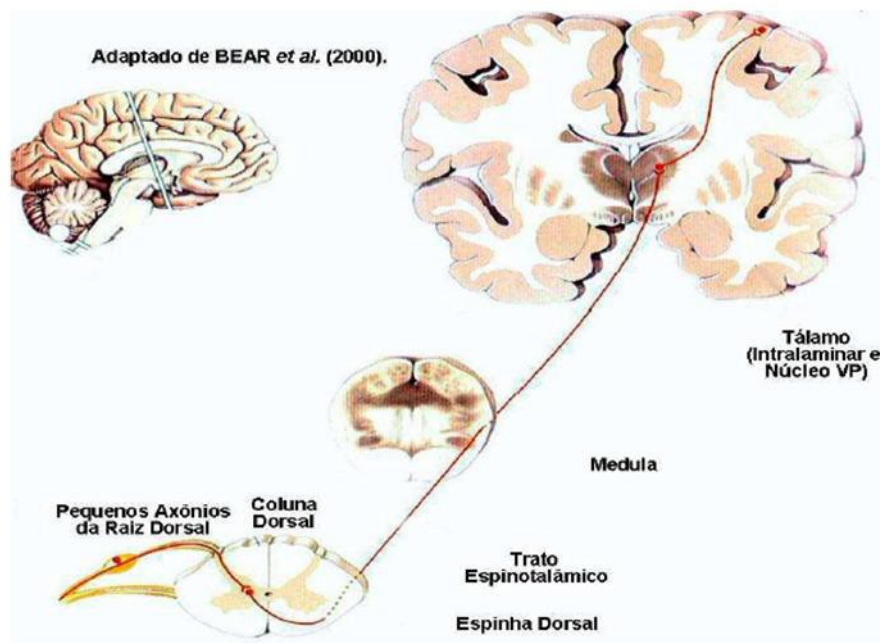


Figura 2: Via ascendente da nocicepção – segunda conexão. Tratos aferentes que partem do corno dorsal e conduzem a informação aos centros de processamento cerebrais.

O tálamo desempenha um papel fundamental como região responsável pela integração do impulso de dor. A partir do tálamo, neurônios de terceira ordem transmitem impulsos para o córtex cerebral, onde ocorre o processamento que resulta em consciência da dor (FÜRST, 1999). O tálamo está envolvido na recepção, integração e transferência do potencial nociceptivo. As diferentes projeções para seus núcleos e deles para o córtex definem a circuitaria funcional de processamento da dor. O núcleo ventroposterolateral do tálamo é reconhecido como o principal centro somatossensorial. A convergência de estímulos inócuos e nocivos de origem articular, cutânea e muscular foi demonstrada, bem como as interconexões com o córtex somatossensorial primário, responsável pelos aspectos de localização e intensidade da dor (WENG et al., 2000). A divisão posterior do núcleo ventromedial e o núcleo posterior são partes integrantes do sistema nociceptivo, estabelecendo conexões com os córtices insular e cingulado, responsáveis pelos aspectos cognitivos e afetivos da dor (TREEDE et al., 1999).

O controle da transmissão da dor também está sujeito à modulação pelas vias descendentes originadas no tronco cerebral. Um circuito modulador endógeno descendente conectando a substância cinzenta periaquedutal, incluindo o núcleo magno da rafe e estruturas adjacentes da medula rostral ventromedial e o corno dorsal da coluna é responsável pela ativação de conexões que promovem inibição ou facilitação da nocicepção (REN e DUBNER, 2002). Entretanto, o sistema descendente não é simplesmente inibitório ou facilitatório. Cada forma de lesão induz um tipo diferente de plasticidade sobre o sistema. Em geral, há uma mistura de inibição e facilitação

descendente, mas o balanço pode ser diferente para os vários pontos na evolução temporal da lesão e para os vários tipos de dano. A principal fonte de influências descendentes, ou, pelo menos, a mais amplamente estudada, é a medula rostral ventromedial. Nessa região, foi demonstrado o envolvimento de receptores N-metil-D-aspartato (NMDA), não NMDA, de óxido nítrico (NO), ácido g-amino-butírico (GABA), de colecistocinina (CCKB) e de opióides (VANEGAS et al., 2004).

2.2 DOR OROFACIAL

Conforme descrito anteriormente, a dor é uma experiência complexa e multidimensional, compreendendo dimensões sensitivo-discriminativa, cognitiva, emocional e motivacional. Tais dimensões apresentam expressão particular na região orofacial, uma vez que esta região é formada por uma complexa variedade de tecidos, dentre eles a pele, dentes, língua, músculos da mastigação, a articulação temporomandibular e glândulas salivares, apresentando significados biológico, emocional e psicológico especial para cada indivíduo (TAKEMURA et al., 2006).

Os tecidos orofaciais são inervados principalmente pelos três ramos (maxilar, oftálmico e mandibular) do nervo trigeminal. Assim como em outros tecidos do corpo, as fibras A δ e C transmitem sinais nociceptivos da região orofacial para o SNC. Os principais corpos celulares das fibras aferentes primárias estão localizados no gânglio trigeminal. Cada um destes neurônios presentes no gânglio trigeminal possui um axônio que projeta-se para os tecidos periféricos e um outro que projeta-se centralmente através do tronco cerebral ipsilateral, onde realiza sinapses com os neurônios de segunda ordem, especialmente no complexo nuclear trigeminal espinhal, o qual inclui o núcleo trigeminal sensorial e o núcleo trigeminal do trato espinhal, sendo este dividido em três subnúcleos: oral, interpolar e caudal (SESSLE, 2005; SESSLE, 2000).

O subnúcleo caudal é uma estrutura laminada semelhante ao corno dorsal da medula espinhal, que se prolonga para a coluna dorsal cervical, onde se funde com o corno dorsal espinhal. O subnúcleo caudal, dentre outros subnúcleos do trato espinhal, é o mais estudado, sendo considerado o ponto crucial do cérebro associado à dor orofacial (SESSLE, 2000).

Os neurônios do complexo trigeminal projetam-se para diversas áreas do SNC. Alguns neurônios possuem axônios que não saem do tronco cerebral, a exemplo dos axônios da substância gelatinosa, que liberam localmente encefalina ou GABA. Alguns neurônios projetam-se para a formação reticular ou para os núcleos do nervo craniano motor, e, assim, fornece sinais necessários para as respostas autonômicas e musculares reflexas. Do tronco encefálico a informação nociceptiva proveniente da região orofacial é conduzida ao tálamo e daí ao córtex cerebral (Figura 3) (DUBNER e REN, 2004).

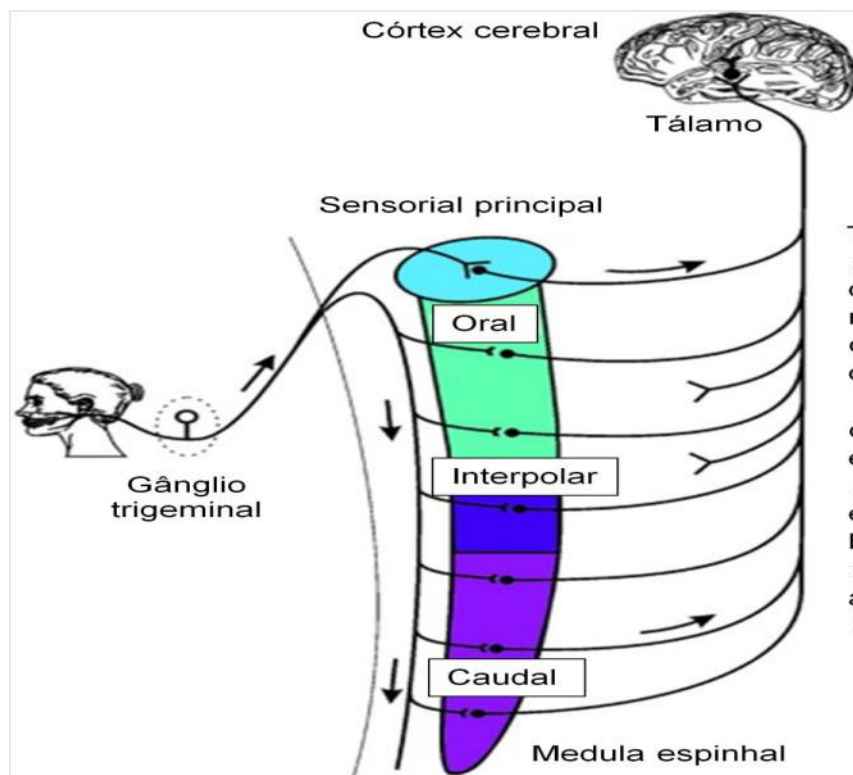


Figura 3: Via sensitiva principal da face e da boca. Adaptado de SESSLE, 2005.

As regiões do tálamo que recebem e retransmitem informações somatossensoriais da região craniofacial são o complexo ventrobasal e o grupo posterior de núcleos e tálamo medial. Os neurônios ventrobasais são em geral neurônios mecanorreceptores de baixo limiar, somatotopicamente organizados. As informações táteis da face e da boca são transmitidas pelos neurônios que se concentram na porção medial do tálamo ventrobasal, a região do tronco, pescoço e membros são retransmitidas pelos neurônios que se localizam na porção lateral do tálamo ventrobasal (SESSLE, 2005).

2.3 PRODUTOS NATURAIS

A utilização de produtos naturais foi relatada desde os povos egípcios datadas cerca de 1500 anos a.C., bem como as civilizações antigas do Oriente Médio, assírios, sumérios, gregos e povos nativos americanos, que descreveram várias doenças e seus tratamentos utilizando produtos naturais (LOMBARDINO e LOWE, 2004).

Tais informações tornaram-se informações importantes para a indústria farmacêutica, o que impulsionou a busca pela identificação de princípios ativos e, conseqüentemente, na síntese de uma gama de medicamentos que atualmente são utilizados para o tratamento de diversas lesões. Várias formas de tratar e curar doenças, tais como a utilização de medicamentos, resultantes do avanço no

meio técnico científico, foram apresentadas à sociedade ao longo do tempo por meio de campanhas publicitárias que prometiam curar as mais diversas doenças. No Brasil, apesar do incentivo da indústria farmacêutica quanto à utilização de medicamentos industrializados, grande parte da população ainda se utiliza de práticas complementares para cuidar da saúde, como o uso de plantas medicinais (ETHUR et al., 2011).

A indústria farmacêutica percebeu que os estudos de produtos naturais orientados pelo uso popular apresentam uma importante meta a ser investigado à descoberta de novos fármacos (YUNES e CALIXTO, 2001). No entanto, para validação científica de uma fonte de recurso natural, algumas etapas devem ser seguidas: estudos taxonômicos, identificação química, testes farmacológicos pré-clínicos e clínicos, além de trabalhos nas comunidades para indicar a forma de uso correta (CAMURÇA-VASCONCELOS et al., 2005).

O médico Alexander Fleming teve uma importante contribuição para a indústria farmacêutica, descobrindo um produto bioativo derivado de fungos, após observar que placas de cultura de *Staphylococcus* sp. quando contaminadas com um bolor, provocavam a morte bacteriana. Posteriormente, Fleming descobriu que esses fungos, do gênero *Penicillium* sp. produziam uma substância bactericida que ele denominou de penicilina. A penicilina salvou muitas vidas e tornou-se um dos antibióticos mais utilizados atualmente na clínica (BENTLEY, 2005).

Atualmente, cerca de 25-30% de todos os medicamentos utilizados na terapêutica são de origem natural ou derivado de algum composto natural. Além disso, o Brasil possui uma das maiores biodiversidades do mundo, aproximadamente 20-22% de todas as plantas e microrganismos existentes no planeta (CALIXTO, 2005).

Além das plantas medicinais, compostos produzidos por fungos e alguns metabólitos animais vêm ganhando destaque perante a indústria farmacêutica. Dentre os compostos bioativos isolados de diferentes espécies de fungos podemos mencionar os terpenóides, esteroides, ácidos graxos, proteínas, lectinas, proteoglicanas e polissacarídeos (LIU et al., 2007).

Os fungos não produzem clorofilas (são heterotróficos) e sua parede celular é constituída de quitina. Desta forma, para sua sobrevivência torna-se inevitável a sua associação com outros seres vivos, especialmente as plantas. Estas associações podem ser parasitárias, comensais ou mutualistas (RICHARDSON, 1999). Os fungos podem apresentar-se de duas naturezas: a da forma teleomórfica, antigamente denominada sexuada e a forma assexuada, clonal ou anamórfica. Na maioria das vezes, para cada espécie existe uma forma anamórfica e uma teleomórfica (LI et al., 2000).

Endofíticos são todos os microrganismos capazes de colonizar, em alguma fase do seu ciclo de vida, tecidos vegetais, principalmente suas partes aéreas, sem causar dano à planta (PETRINI,

1991). Fungos endofíticos são encontrados na maioria das espécies vegetais, permanecendo em estado de latência ou colonizando ativamente os tecidos de forma local ou sistêmica. Por ocuparem um nicho ecológico semelhante àqueles ocupados por patógenos, os endofíticos apresentam grande potencial para o controle biológico, que se dá através de diversos mecanismos: competição por espaço e nutrientes na planta hospedeira, produção de compostos antimicrobianos e indução de resistência sistêmica (PLEBAN et al., 1997; LI et al., 2000).

O gênero *Rhizoctonia* foi descrito pela primeira vez pelo micologista francês De Candolle, em 1815, como sendo um fungo não esporulante que ataca, preferencialmente, raízes e que produz filamentos de hifas a partir de escleródios (SNEH et al., 1991). O micélio é caracterizado pela ramificação em ângulo reto com septação imediatamente e após o ramo, constrição na base da ramificação e septo doliporo (ADAMS, 1988). A fase sexuada deste fungo é *Thanatephorus cucumeris*, classificado no reino Fungi, filo Basidiomycota, ordem Ceratobasidiales, Ceratobasidiaceae (ANDERSON, 1982).

Segundo Botelho et al. (2001), *Rhizoctonia solani* é uma espécie complexa, com muitos biótipos que diferem quanto à patogenicidade, aos hospedeiros, à distribuição na natureza e à aparência em meio de cultura. Relatos sobre isolados de *Rhizoctonia*, fitopatogênicos ou saprofíticos, não descritos em nível específico, são comuns na literatura devido às dificuldades na identificação impostas por limitações morfológicas e taxonômicas do gênero, tais como:

- (i) Ausência de esporos assexuais;
- (ii) Instabilidade na morfologia de culturas e escleródios, em função de variações nas condições de cultivo (PARMETER e WHITNEY, 1970);
- (iii) Ampla variabilidade morfológica, sendo que há espécies constituídas por diferentes grupos de isolados com afinidade para efetuar anastomose de hifas entre si (OGOSHI, 1987);
- (iv) Necessidade de métodos específicos para se induzir estruturas basidiais in vitro (CARLING e SUMMER, 1992);
- (v) Desconhecimentos dos teleomorfos para algumas espécies anamórficas (STALPERS; ANDERSEN, 1996).

Desde o século passado, os endofíticos têm sido usados como agentes de controle biológico de pragas e doenças como bioherbicidas e como vetores para introduzir genes em plantas hospedeiras (AZEVEDO et al., 2000). Estes fungos também têm sido utilizados para produção de compostos biologicamente ativos como antibióticos e metabólitos secundários de interesse farmacológico (RODRIGUES et al., 2000).

Estudos prévios têm demonstrado propriedades benéficas da fração metanólica do fungo endofítico *Rhizoctonia solani*, tais como efeito antinociceptivo e antiinflamatório (BARROS et al.,

2011). A FM foi capaz de reduzir a nocicepção induzida pelo ácido acético por um período de 8 h, como também apresentou atividade antinociceptiva no teste da pata no ensaio da formalina, tanto na fase neurogênica quanto na fase inflamatória. Além disso, a FM aumentou o tempo de latência avaliado no modelo de nocicepção térmica, sugerindo assim uma possível ação central. Os autores sugeriram também que a substância age via receptor opióide, pois apenas a nalaxona foi capaz de reverter a ação da fração metanólica.

3 PROPOSIÇÕES

3.1 GERAL

Avaliar a ação antinociceptiva do Cyclo(Gly-Pro) sobre a dor orofacial em roedores.

3.2 ESPECÍFICOS

- Avaliar a nocicepção orofacial neurogênica e inflamatória do CGP no teste da formalina;
- Avaliar a nocicepção orofacial do CGP por meio da capsaicina;
- Avaliar a nocicepção orofacial do CGP através do glutamato;
- Verificar possíveis alterações motoras induzidas pela administração do CGP.

4 METODOLOGIA

4.1 ANIMAIS

Foram utilizados 90 camundongos Swiss machos (n= 6/grupo), pesando de 28 a 33 g, com 2 a 3 meses de idade, advindos do Biotério Central da Universidade Federal de Sergipe (UFS). Os animais foram mantidos em ciclo claro escuro de 12:00/12:00h (claro: 6 às 18h; escuro 18 às 6h), à temperatura de $25^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$, com dieta balanceada com ração do tipo “pellet” e acesso livre a água. No presente estudo foram respeitados os princípios éticos estabelecidos pela Sociedade Brasileira de Ciência em Animal de Laboratório (SBCAL) e todos os procedimentos experimentais foram analisados e previamente aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da UFS (CEPA/UFS: 82/2012).

4.2 SUBSTÂNCIAS

A formalina, glutamato e capsaicina foram obtidos da Sigma (EUA). A substância Cyclo(Gly-Pro) de fórmula $\text{C}_7\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_2$ e peso molecular de 154,17 g/mol foi adquirida pela sua compra junto com a empresa Sigma, Brasil.

4.3 TESTES OROFACIAIS DE ANTINOCICEPÇÃO

4.3.1 Teste de nocicepção orofacial induzida por Formalina

A injeção de formalina no lábio superior induz a uma resposta comportamental caracterizada pela fricção da área perinasal com a pata anterior, e, por vezes, com a pata traseira. A dor, no modelo de nocicepção orofacial induzida por formalina, é resultante da ação inflamatória oriunda da ligação da formalina com as proteínas teciduais, levando a estimulação direta dos nociceptores, na primeira fase, e a um processo inflamatório com consequente sensibilização central, segunda fase, de forma análoga ao observado em todos os testes que utilizam a formalina como algógeno. Entretanto, quando injetada na região orofacial, a formalina excita os neurônios nociceptivos convergentes do núcleo trigeminal espinhal, o que torna o teste de nocicepção orofacial induzida por formalina mais específico na análise do componente central da dor quando comparado, por exemplo, ao teste da injeção intra-plantar (LUCCARINI et al., 2006; CLAVELOU et al., 1989; ANDERSON, VAKOULA e VEINOTE, 2003; RABOISSON e DALLEL, 2004).

Esse teste consistiu na injeção subcutânea de formalina (20µl), a uma concentração de 2%,

no lábio superior de camundongos, conforme descrito por CLAVELOU et al. (1989). Inicialmente, cada animal foi colocado em uma caixa de madeira (30x30x30cm) com bases e laterais espelhadas e frente de vidro, por um período de 15 minutos para minimizar o estresse ao novo ambiente. Foi realizada a injeção de formalina e, imediatamente após, o animal retornou a caixa para o período de observação, dividido em 2 blocos de 0-5 minutos e de 15-30 minutos. A intensidade da nocicepção foi determinada, para cada bloco, pela contagem do tempo (em segundos) que o animal permanecer friccionando a área injetada com as patas traseiras e/ou dianteiras. Trinta minutos antes da injeção de formalina, grupos de seis animais foram tratados com Cyclo(Gly-Pro) (0.1, 1 e 10 mg/kg, i.p.), Salina NaCl 0,9% (i.p.) ou Morfina (Mor) (5mg/Kg; i.p.) (Figura 4). Todos animais foram eutanasiados com uma sobredose anestésica (Ketamina; 80mg/kg).

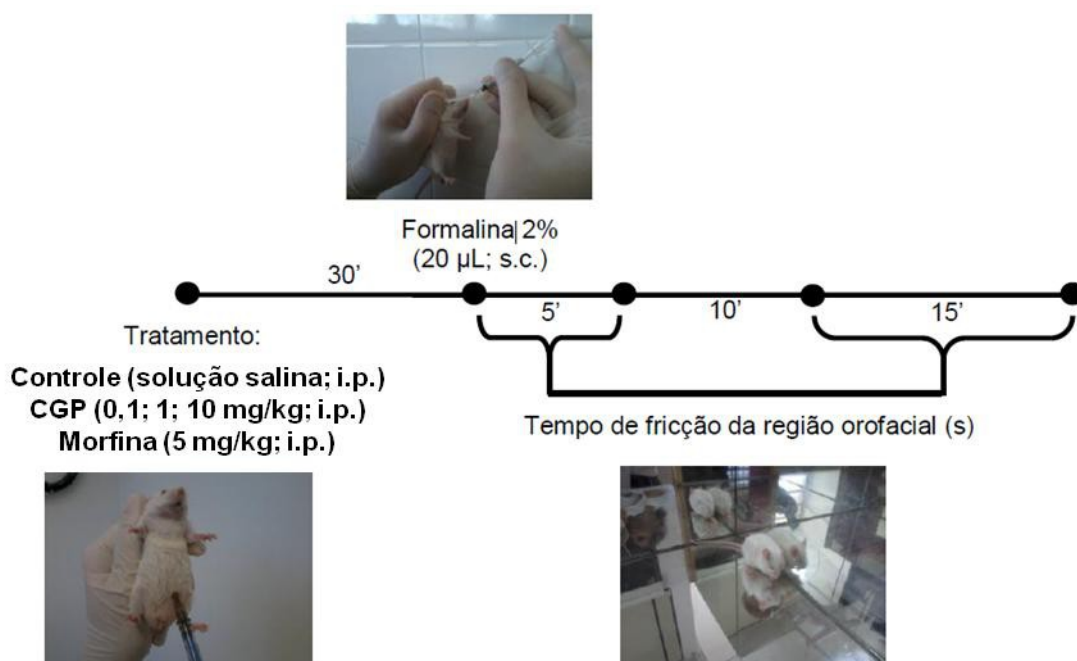


Figura 4: Resumo esquemático de Teste de nocicepção orofacial induzida por formalina. Foto: Renan G. Brito.

4.3.2 Teste de nocicepção orofacial induzida por capsaicina

A capsaicina, o componente majoritário da pimenta vermelha, é uma ferramenta amplamente utilizada no estudos dos mecanismo fisiológicos da dor. O uso de capsaicina como algógeno químico oferece várias vantagens, uma vez que a capsaicina tem uma ação seletiva sobre as fibras sensoriais que transmitem as sensações dolorosas. Estes efeitos resultam da ativação do receptor vanilóide 1, um canal iônico presente em neurônios sensoriais, principalmente na via trigeminal, mais especificamente no gânglio trigeminal. A injeção de capsaicina é capaz, ainda, de aumentar a

excitabilidade dos neurônios nociceptivos espinhais, sendo amplamente utilizada no estudo pré-clínico dos mecanismos centrais envolvidos na nocicepção. (HOLZER, 1991; PELISSIER; PAJOT; DALLEL, 2002).

Esse teste consistiu na injeção subcutânea de capsaicina (20 μ l), a uma concentração de 2%, no lábio superior de camundongos, conforme descrito por QUINTANS-JÚNIOR et al. (2010). Inicialmente, cada animal foi colocado em uma caixa de madeira (30x30x30cm) com bases e laterais espelhadas e frente de vidro, por um período de 15 minutos para minimizar o estresse ao novo ambiente. Foi realizada a injeção de capsaicina e, imediatamente após, o animal retornou a caixa para um período de observação de 42 min. A intensidade da nocicepção foi determinada pela contagem do tempo (em segundos) que o animal permaneceu friccionando a área injetada com as patas traseiras e/ou dianteiras. Trinta minutos antes da injeção de capsaicina, grupos de seis animais foram tratados com Cyclo-Gly-Pro (0.1, 1 e 10mg/kg, i.p.), Salina NaCl 0,9% (i.p.) ou Morfina (5mg/Kg; i.p.) (Figura 5).

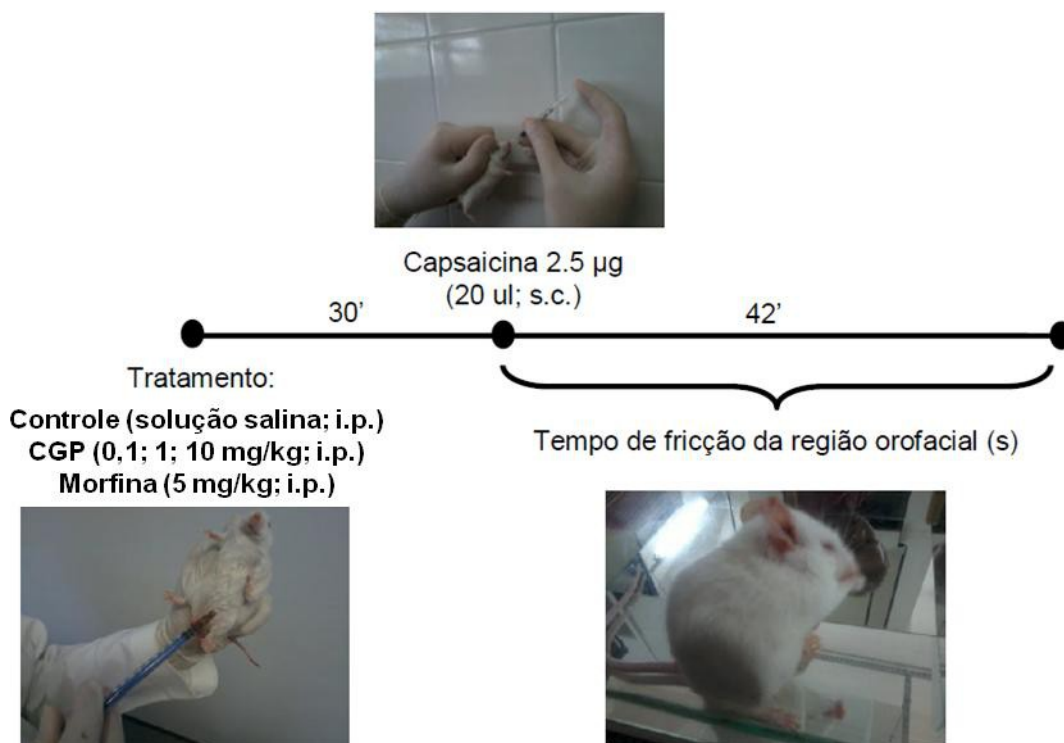


Figura 5: Resumo esquemático de Teste de nocicepção orofacial induzida por capsaicina. Foto: Renan G. Brito.

4.3.3 Teste de nocicepção orofacial induzida por glutamato

O glutamato é um neurotransmissor excitatório com importante papel nos mecanismos da dor. Níveis de glutamato periféricos estão aumentados na pele ou tecidos profundos, em resposta à lesão dos tecidos, a estimulação elétrica do nervo e na inflamação. A administração subcutânea local

de glutamato evoca um processo doloroso ou uma hiperalgesia térmica ou mecânica (GAZERANI et al., 2006; RO, 2003).

Esse teste consistiu na injeção subcutânea de glutamato (40 μ l), a uma concentração de 2%, na região perinasal de camundongos, conforme descrito por BEIRITH et al. (2002). Inicialmente, cada animal foi colocado em uma caixa de madeira (30x30x30cm) com bases e laterais espelhadas e frente de vidro, por um período de 15 minutos para minimizar o estresse ao novo ambiente. Foi realizada a injeção de glutamato e, imediatamente após, o animal retornará a caixa para um período de observação de 15 min. A intensidade da nocicepção foi determinada, para cada bloco, pela contagem do tempo (em segundos) que o animal permaneceu friccionando a área injetada com as patas traseiras e/ou dianteiras. Trinta minutos antes da injeção de glutamato, grupos de seis animais serão tratados com CGP (0.1, 1 e 10 mg/kg, i.p.), Salina NaCl 0,9% (i.p.) ou Morfina (5mg/Kg; i.p.) (Figura 6).

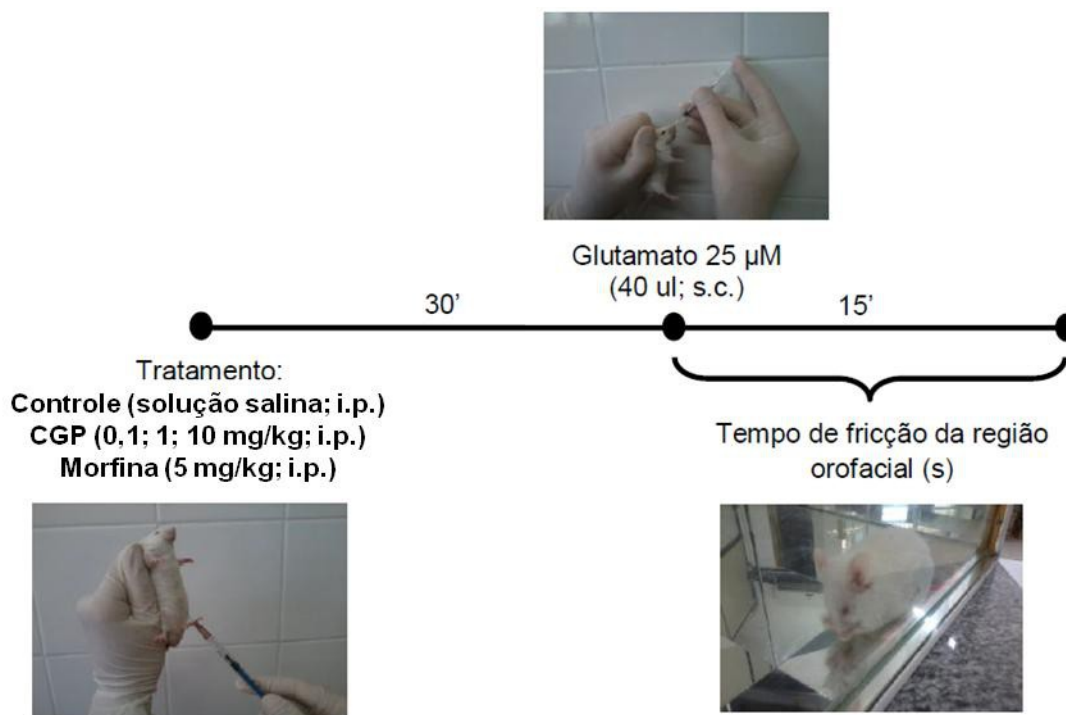


Figura 6: Resumo esquemático de Teste de nocicepção orofacial induzida por glutamato. Foto: Renan G. Brito.

4.4 AVALIAÇÃO DA COORDENAÇÃO MOTORA

Os testes de coordenação motora são metodologias utilizadas na triagem de drogas com possível atividade neurotóxica/miorrelaxante. Tais testes são apropriados para detectar o efeito de relaxamento muscular ou de incoordenação motora produzido por agentes farmacológicos

(PULTRINI; GALINDO; COSTA, 2006).

4.4.1 Teste da movimentação espontânea

Grupos de seis camundongos foram tratados com CGP (0,1, 1 e 10 mg/Kg; i.p.), diazepam (1,5 mg/Kg; i.p.) ou veículo (solução salina 0,9%; i.p.). Os animais foram colocados em uma caixa (50 × 50 × 50 cm) dividida em 16 quadrantes e a atividade locomotora espontânea foi avaliada 0,5, 1 e 2 h, durante 3 min, após a administração, sendo quantificado o número de quadrantes percorridos pelos animais (ASAKURA et al., 1993) (Figura 7).

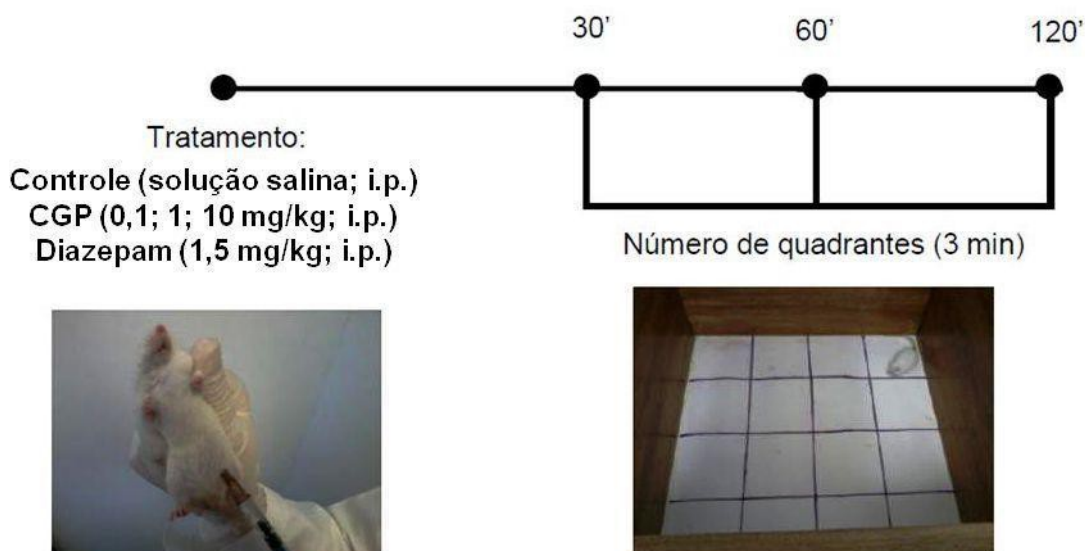


Figura 7: Resumo esquemático de Teste de movimentação espontânea. Foto: Renan G. Brito.

4.5 DESCARTES

Após a eutanásia dos animais, as carcaças foram depositadas em sacos plásticos apropriados e armazenadas no freezer de coleta de material biológico situado no Biotério do Departamento de Fisiologia da Universidade Federal de Sergipe para posterior recolhimento durante a coleta de lixo hospitalar. Os resíduos perfuro-cortantes foram armazenados em caixas adequadas e levados até o hospital universitário para descarte junto ao material do hospital.

4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram expressos em média \pm e.p.m. As diferenças entre os grupos foram analisadas através do teste de variância ANOVA, uma via, seguido pelo teste de Tukey, utilizando-se o software Graph Pad Prism 5.0® (San Diego, EUA). Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 TESTES OROFACIAIS DE ANTINOCICEPÇÃO

A administração de CGP, em todas as doses, produziu uma redução significativa ($p < 0,001$) no tempo fricção da região orofacial no teste da nocicepção orofacial induzida por formalina quando comparado ao controle (Figura 7). Na primeira fase (A) da formalina, houve diferença significativa entre as doses de CGP 0,1 e 10 mg/kg ($\# p < 0,01$); enquanto na segunda fase (B), houve diferença entre a dose 1 mg/kg de CGP e Mor ($\# p < 0,01$), e 10 mg/kg de CGP e Mor ($\# p < 0,01$).

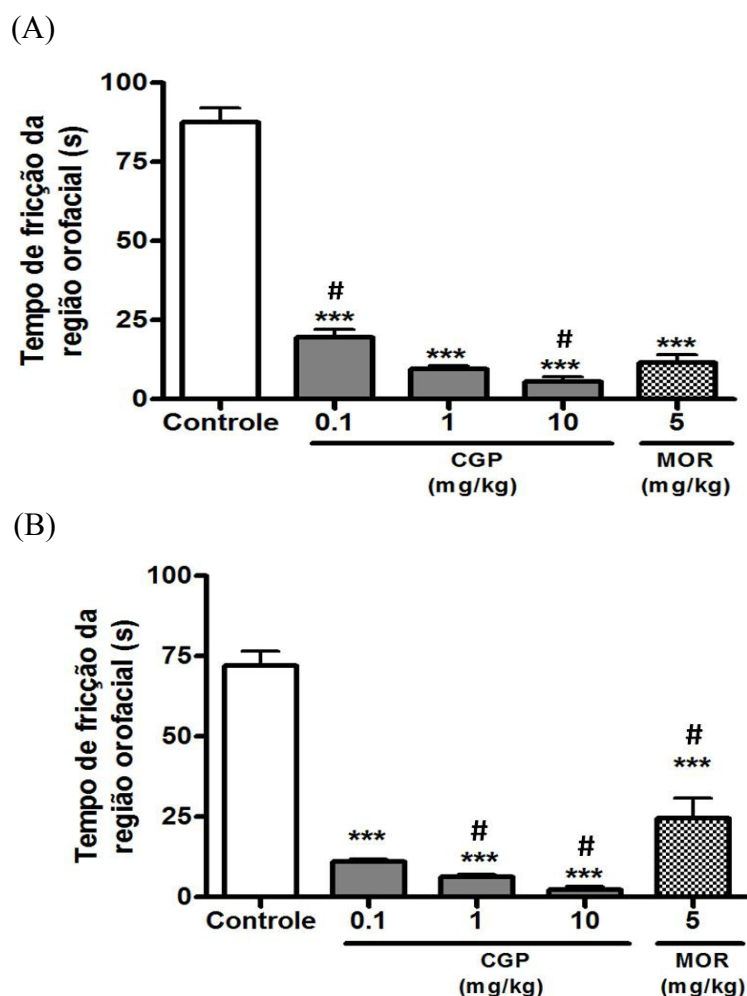


Figura 7: Efeitos do CGP sobre o teste da nocicepção orofacial induzida por formalina. Veículo (controle), CGP (0,1, 1 e 10 mg/kg) ou morfina (MOR, 5 mg/kg) foram administrados intraperitonealmente 30 min antes da injeção de formalina. (A) primeira fase (0-5 minutos) e (B) segunda fase (15 a 40 minutos). Valores expressos em média \pm e.p.m. ($n = 6$, por grupo). *** $p < 0,001$ quando comparado ao controle e $\# p < 0,01$ entre as doses (ANOVA, uma via, seguido pelo teste de Tukey).

O teste de nociceção orofacial induzida por formalina representa um modelo animal de nociceção cutânea persistente na região trigeminal. Nesse teste a resposta comportamental expressa pelo animal difere acentuadamente do que é observado nos ensaios mais comuns, onde a pata traseira é estimulada. As vias que controlam essas respostas motoras são distintas, o que ajuda a compreender as diferenças nos processos de informação nociceptiva entre as regiões da coluna vertebral e do trigêmeo, sendo possível examinar diferentes níveis de integração do mesmo estímulo nocivo nos sistema nervoso periférico e central (RABOISSON e DALLEL, 2004).

Este modelo comportamental permite avaliar dois tipos diferentes de dor, a dor neurogênica e inflamatória. Na primeira fase deste modelo, caracterizada pela dor neurogênica, observa-se ativação direta dos nociceptores presentes em axônios não-mielinizados, como fibras C, e pouco mielinizados, como as fibras A δ , acarretando na liberação de neuropeptídeos como SP e CGRP em terminais periféricos e centrais (MCCALL et al., 1996). Já na segunda fase, caracterizada pela dor inflamatória, a dor é mediada pela combinação de mecanismos de sensibilização, tanto na periferia quanto a nível central (TJOLSEN et al., 1992).

Tem sido demonstrado que a injeção de formalina em roedores provoca a liberação de várias substâncias algícas e pró-inflamatórias, as quais podem estar diretamente relacionadas às fases características deste ensaio. Dentre as substâncias liberadas, destaca-se o glutamato, prostaglandinas, bradicinina, taquicininas, óxido nítrico, dentre outras (TJOLSEN et al., 1992; SANTOS e CALIXTO, 1997).

Na primeira fase do ensaio da formalina, a dose de 10 mg/kg de CGP proporcionou uma maior redução no tempo de fricção da região orofacial comparado a Morfina, que é o fármaco considerado “padrão ouro” no controle da analgesia, sendo assim utilizado como fármaco de referência (controle positivo). Deste modo, constatamos que os efeitos antinociceptivos do CGP mostraram-se semelhantes ao da morfina, sugerindo uma ação central.

BARROS et al., (2011), com o propósito de avaliar o mecanismo de ação da fração metanólica do fungo endofítico *Rhizoctonia solani*, utilizaram diferentes estratégias que incluem o uso dos antagonistas do sistema opióide, dopaminérgico, adrenérgico, muscarínicos e um inibidor da síntese de óxido nítrico (L-NAME) sobre a antinociceção induzida pela FM no modelo de formalina. Todos antagonistas dos sistemas investigados não revertaram os efeitos antinociceptivos da FM, exceto a naloxona, um antagonista não seletivo dos receptores opióides, que reverteu a atividade antinociceptiva, sugerindo que o sistema opióide esteja envolvida nas ações antinociceptivas da fração metanólica do fungo endofítico *Rhizoctonia solani*.

Desta forma, sugerimos que o mecanismo de ação do Cyclo(Gly-Pro) também deve atuar sobre o sistema opióide e que a inibição do comportamento nociceptivo pelo CGP, observada no

presente estudo, torna tal dipeptídeo uma substância possivelmente útil no tratamento de processos nociceptivos na região trigeminal.

O CGP, em todas as doses, também reduziu de forma significativa ($p < 0,001$) o tempo de fricção da região orofacial no teste da nocicepção orofacial induzida pela administração de capsaicina (Figura 8). Houve diferença significativa entre as doses de CGP 0,1 e 10 mg/kg ($\# p < 0,01$); e 10 mg/kg de CGP e Mor ($\# p < 0,01$).

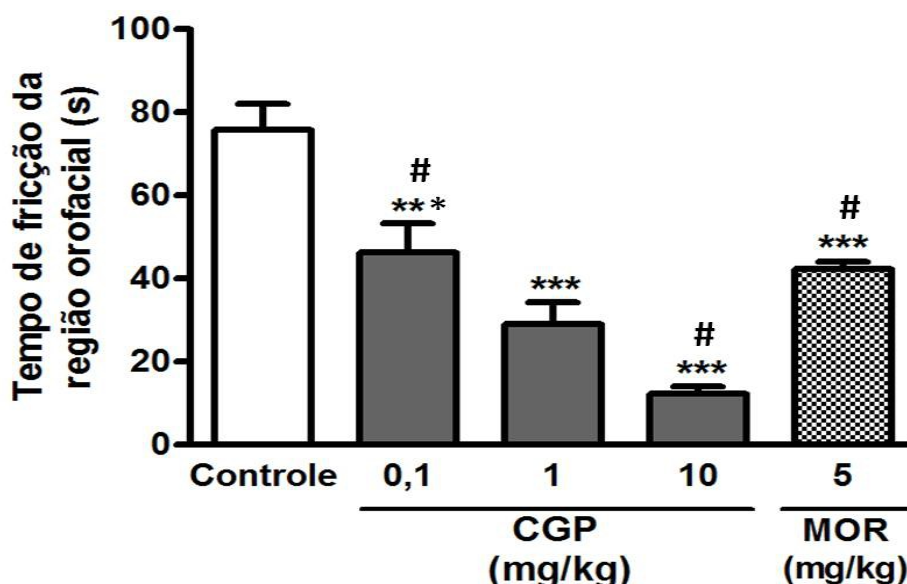


Figura 8: Efeitos do CGP sobre a nocicepção orofacial induzida por capsaicina. Veículo (controle), CGP (0,1, 1 e 10 mg/ kg) ou morfina (MOR, 5 mg/kg) foram administrados intraperitonealmente 30 min antes da injeção de capsaicina. Valores expressos em média \pm e.p.m. ($n = 6$, por grupo). *** $p < 0,001$ quando comparado ao controle e $\# p < 0,01$ entre as doses (ANOVA, uma via, seguido pelo teste de Tukey).

A capsaicina tem ação seletiva sobre as fibras sensitivas que transmitem sensações de dor e provocam vasodilatação reflexa do axônio a qual resulta da ativação do receptor vanilóide 1, um canal iônico sensível ao calor presente em neurônios sensoriais de pequeno diâmetro. A injeção de capsaicina também é capaz de aumentar a excitabilidade dos neurônios nociceptivos trigeminais (PELISSIER, PAJOT, DALLEL, 2002). Esta inibição observada tanto no teste da capsaicina quanto no teste da formalina pode ser resultado de uma inibição da substância P ou por uma ação de bloqueio sobre o receptor neuroquinina 1 (NK-1) (HOLANDA PINTO et al., 2008), pois estudos demonstraram que a administração de um antagonista de NK-1, foi capaz de bloquear a segunda fase do teste de formalina (LUCCARINI et al., 2003).

A Figura 9 representa os resultados do teste de nocicepção orofacial induzida pelo glutamato. O CGP, em todas as doses, promoveu uma redução significativa ($p < 0,01$ ou $p < 0,001$) do tempo de fricção da região orofacial. Houve diferença significativa entre as doses de CGP 0,1 e 10 mg/kg ($\# p < 0,01$).

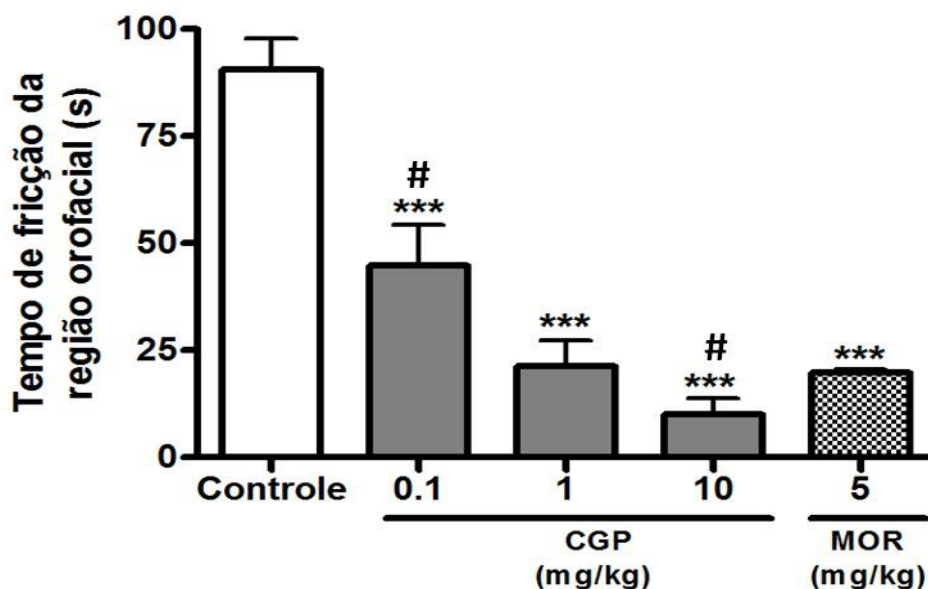


Figura 9: Efeitos do CGP sobre a nocicepção orofacial induzida por glutamato. Veículo (controle), CGP (0,1, 1 e 10 mg/ kg) ou morfina (MOR, 5 mg/kg) foram administrados intraperitonealmente 30 min antes da injeção de capsaicina. Valores expressos em média \pm e.p.m. ($n = 6$, por grupo). *** $p < 0,001$ quando comparado ao controle e $\# p < 0,01$ entre as doses (ANOVA, uma via, seguido pelo teste de Tukey).

O glutamato é capaz de ativar os nociceptores aferentes primários após a sua liberação a partir de tecidos inflamados, uma vez que a administração de cetamina, um antagonista do receptor NMDA, na articulação temporomandibular (ATM), provocou uma atenuação significativa da dor induzida por glutamato (HONDA et al., 2011). Assim, a inibição da nocicepção induzida por glutamato por meio do tratamento com CGP pode estar associada com a sua interação com o sistema glutamatérgico.

Além disso, como a inibição da excitabilidade neuronal está associada com o bloqueio dos canais de Na^+ , (DE SOUSA et al., 2006) mostraram que a CGP foi capaz de reduzir a excitabilidade dos nervos isolados através de uma diminuição do potencial de ação composto (CAP) de amplitude. Vários trabalhos sugerem que a avaliação do PAC permite analisar a ação de novas substâncias sobre os canais de Na^+ e sobre a condutância elétrica de fibras mielinizadas (DE SOUSA et al.,

2006; QUINTANS-JÚNIOR et al., 2010). Desta forma, este efeito poderia estar influenciando na resposta antinociceptiva da CGP observada nos modelos experimentais de nocicepção utilizados neste estudo.

5.2 AVALIAÇÃO DA COORDENAÇÃO MOTORA

Esse método é utilizado em animais de laboratório para identificar o efeito comportamental induzido por fármacos (HSIEH et al., 1991; FILE; FERNANDES, 1994), avaliando o nível de excitabilidade do SNC (MASUR; MARTZ; CARLINI, 1971). Dessa forma, drogas que reduzem a locomoção sugerem efeito inibitório do SNC (ADZU et al., 2002), por outro lado, o aumento da atividade motora é característico de drogas estimulantes, a exemplo das do tipo anfetamina (RANG et al., 2007).

No teste de movimentação espontânea os animais tratados com as diferentes doses de CGP não apresentaram redução significativa da locomoção espontâneas (número de cruzamentos) nos tempos de 0,5, 1 e 2 h após a administração, ao contrário do DZP, que reduziu significativamente o número de cruzamentos ($p < 0,001$) (Tabela 2).

Levando-se em consideração os efeitos antinociceptivo do CGP observados nos testes de nocicepção orofacial, decidiu-se, também, examinar os efeitos do CGP sobre o desempenho motor no teste de movimentação espontânea, uma vez que estudos anteriores sugeriram que a depressão do SNC e os efeitos de relaxamento muscular não específicos podem reduzir a coordenação motora e invalidar os resultados obtidos nos testes comportamentais (LE BARS, GOZARIU, CADDEN, 2001; RABOISSON e DALLEL, 2004).

Desta forma, os resultados do presente estudo não mostraram qualquer interferência, nas doses testadas, na coordenação motora dos animais, eliminando-se, assim, a possibilidade da existência de um efeito de relaxamento muscular inespecífico acarretado pelo CGP nas doses utilizadas. Para descartar qualquer possibilidade de interferência do CGP sobre a atividade motora dos animais, consolidando os efeitos nociceptivos, foi avaliado o efeito de CGP sobre a movimentação espontânea no campo aberto. Os resultados mostraram que o CGP não foi capaz de alterar a coordenação motora dos animais, nas doses avaliadas. Este resultado corrobora com a hipótese de que a ação antinociceptiva do CGP observada neste estudo não é resultado de uma possível ação depressora sobre os centros que coordenam a atividade motora do animal à nível de SNC.

Tabela 2. Efeitos do Cyclo(Gly-Pro) (CGP) sobre a movimentação espontânea em camudongos

Tratamento	Dose (mg/kg)	Número de cruzamentos ^a		
		30'	60'	120'
Vehicle	-	59.0 ± 5.0	46.0 ± 7.9	41.0 ± 7.8
CGP	0.1	44.3 ± 9.7	48.2 ± 5.5	36.7 ± 6.7
CGP	1.0	48.3 ± 5.2	46.8 ± 8.2	35.0 ± 6.7
CGP	10.0	37.8 ± 8.9	37.5 ± 5.9	32.5 ± 2.8
DZP	1.5	0.6 ± 0.3***	0.5 ± 0.2***	2.6 ± 0.8***

n = 6, por grupo.

aValores expressos em media ± e.p.m.

***p < 0,001 quando comparado ao controle (ANOVA, uma via, seguido pelo teste de Tukey).

6 CONCLUSÃO

Os dados apresentados no presente estudo nos permite sugerir que o Cyclo(Gly-Pro) apresentou atividade antinociceptiva no ensaio da formalina, tanto na fase neurogênica quanto na fase inflamatória, sugerindo assim, uma possível ação central do CGP. A sua atividade antinociceptiva foi confirmada também nos demais testes de nocicepção orofacial. Nas doses utilizadas, o CGP não induziu incoordenação motora no teste de movimentação espontânea.

Outros estudos são necessários visando elucidar os mecanismos de ação, tanto centrais quanto periféricos, do Cyclo(Gly-Pro), assim como a ação do CGP sobre patologias que apresentam como característica clínica principal a dor, podendo-se, assim, entender melhor tal perfil analgésico sugerido para o CGP.

REFERÊNCIAS

- ADAMS GC. *Thanatephorus cucumeris* (*Rhizoctonia solani*), a species complex of wide host range. *Advances in Plant Pathology*, 6: 535-552, 1998.
- ADZU, B.; AMOS, S.; DZARMA, S.; WAMBEBE, C.; GAMANIEL, K. Effect of *Zizyphus spina-christi* Willd aqueous extract on the central nervous system in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 79, p. 13-16, 2002.
- ALFENAS AC; SILVEIRA SF. Análise de proteínas e isoenzimas de isolados de *Rhizoctonia solani* patogênicos a *Eucalyptus*. *Fitopatologia brasileira*, 27: 33-41, 2002.
- ALMEIDA, F. R. C.; OLIVEIRA, F. S. Avaliação de drogas analgésicas de ação central. In: ALMEIDA, R. N. *Psicofarmacologia: fundamentos práticos*, 1ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 17, 179-188, 2006.
- ALMEIDA TF; ROIZENBLATT S; TUFIK S. Afferent pain pathways: a neuroanatomical review. *Brain Research*, 1000: 40-56, 2004.
- ALVES NETO O. *Dor: princípios e prática*. 1. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.
- ANDERSON, L. C.; VAKOULA, A.; VEINOTE, R. Inflammatory hypersensitivity in a rat model of trigeminal neuropathic pain. *Archives of oral biology*, 48: 161–169, 2003.
- ANDERSON NA. The genetics and pathology of *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*, St. Paul, 20: 329-344, 1982.
- ASAKURA W; ASAKURA K; MATSUMOTO H. Effect of alpha 2-adrenergic drugs on REM sleep deprivation-induced increase in swimming activity. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 46: 111–115, 1993.
- AZEVEDO LF; COSTA-PEREIRA A, MENDONÇA L, DIAS CC, CASTRO LOPES J. Epidemiology of chronic pain: a population-based nationwide study on its prevalence,

characteristics and associated disability in Portugal. *The journal of pain*, 13, 773–783, 2012.

AZEVEDO JL; MACCHERONI WJr; PEREIRA JO; ARAÚJO WL. Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants. *EJB: Eletronic Journal Biotechnology*, 3, 2000.

BARANAUSKAS G; NISTRI A. Sensitization of pain pathways in the spinal cord: cellular mechanisms. *Progress in Neurobiology*, 54: 349-365, 1998.

BARROS BS; SILVA JP; FERRO JNS; AGRA IKR; BRITO FA; ALBUQUERQUE ED; CAETANO LC; BARRETO E. Methanol extract from mycelium of endophytic fungus *Rhizoctonia* sp. induces antinociceptive and anti-inflammatory activities in mice. *J Nat Med*, 65:526–531, 2011.

BEIRITH A; SANTOS AR; CALIXTO JB. Mechanisms underlying the nociception and paw oedema caused by injection of glutamate into the mouse paw. *Brain Research*, 924, 219-228, 2002.

BEKKERING GE; BALA MM; REID K. Epidemiology of chronic pain and its treatment in The Netherlands. *The Netherlands journal of medicine*, 69: 141–153, 2011.

BENTLEY R. The development of penicillin: Genesis of famous antibiotic. *Perspect Biol Med*, 8: 44-52, 2005.

BOTELHO SA; RAVA CA; LEANDRO WM. Supressividade induzida a *Rizoctonia solani* pela adição de diferentes resíduos vegetais. *Fitopatologia Brasileira*, 31, 35-42, 2001.

BRAUN-FILHO, J. L.; BRAUN, L. Dor aguda. *Dor, Diagnóstico & Tratamento*, 1, 3-14, 2004.

CALIXTO JB. Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America: a personal view. *J Ethnopharmacol*, 100: 131-134, 2005.

CAMURÇA-VASCONCELOS ALF; MORAIS SM; SANTOS LFL; ROCHA MFG; BEVILAQUIA CML. Validação de plantas medicinais com atividade anti-helmíntica: artigo de revisão. *Ver. Bras. Pl. Med.*, 7: 97-106, 2005.

CARLING EE; SUMMNER DR; SINGLETON LL; MIHAIL JD; RUSH CM. (Eds). Rhizoctonia. In: Methods for Research on Soilborne Phytopathogenic Fungi. Minnesota, USA: APS Press, 157-165, 1992.

CHENG HY; PITCHER GM; LAVIOLETTE SR; WHISHAW IQ; TONG KI; KOCKERITZ LK; WADA T; JOZA NA; CRACKOWER M; GONÇALVES J; SAROSI I; WOODGET JR; OLIVEIRA DOS SANTOS AJ; IKURA M; VAN DER; KOOY D; SALTER MW; PENNINGER JM. Dream is a critical transcriptional repressor for pain modulation. Cell, 108: 31-43, 2002.

CLAUW DJ; ARNOLD LM; MCCARBERG BH. The science of fibromyalgia. Mayo Clinic proceedings. Mayo Clinic, 86, 907–911, 2011.

CLAVELOU P; PAJOT J; DALLEL R; RABOISSON P. Application of the formalin test to the study of orofacial pain in the rat. Neuroscience Letters, 103, 349-353, 1989.

CUNHA TM; VERRI JR WA; VIVANCOS GG; MOREIRA IF; REIS S; PARADA CA; CUNHA FQ; FERREIRA SH. An electronic pressure-meter nociception paw test for mice. Braz J Med Biol Res, 37, 401-407, 2004.

CUNHA TM; VERRI WAJR; SILVA JS; POOLE S; CUNHA FQ; FERREIRA SH. A cascade of cytokines mediates mechanical inflammatory hypernociception in mice. Proc Natl Acad Sci U S A, 102, 1755-60, 2005.

DEMYTTENAERE, K; BONNEWYN A, BRUFFAERTS R, BRUGHA T, DE GRAAF R, ALONSO J. Comorbid painful physical symptoms and depression: prevalence, work loss, and help seeking. Journal of affective disorders, 92:185–193, 2006.

DE SOUSA DP; GONÇALVES JCR; QUINTANS-JÚNIOR LJ; CRUZ JS; ARAÚJO DAM; ALMEIDA RN. Study of anticonvulsant effect of citronellol, a monoterpene alcohol, in rodents. Neuroscience letters, 401, 231–235, 2006.

DIONNE RA. Pharmacologic treatments for temporomandibular disorders. Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics, 83, 134–142, 1997.

DUBNER, R.; REN, K. Brainstem mechanisms of persistent pain following injury. *Journal of orofacial pain*, 18(4), 299–305, 2004.

DUBOIS MY; GALLAGHER RM; LIPPE PM. Pain medicine position paper. *Pain medicine*, 10, 972–1000, 2009.

ETHUR LZ; JOBIM, J.C.; RITTER, J.G.; OLIVEIRA, G.; TRINDADE, B.S.. Formal trade and profile of consumers of medicinal plants and phytomedicine in Itaquí Municipality, Rio Grande do Sul State, Brazil. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 13: 121–128, 2011.

FURST S. Transmitter involved in antinociception in the spinal cord. *Brain Res Bulletin*, 48: 129–141, 1999.

GAZERANI P; WANQ K; CAIRNS BE; SVENSSON P; ARENDT-NIELSEN L. Effects of subcutaneous administration of glutamate on pain, sensitization and vasomotor responses in healthy men and women. *Pain*, 124, 338–348, 2006.

HARGREAVES KM. Orofacial pain. *Pain*, 152:25–32, 2011.

HARKER J; REID KJ; BEKKERING GE; KELLEN E; BALA MM; RIEMSMA R; WORTHY G; MISSO K; KLEIJNEN J. Epidemiology of chronic pain in denmark and sweden. *Pain research and treatment*, 2012.

HOLANDA PINTO AS; PINTO LMS; GUEDES MA; CUNHA GMA; CHAVES MH. Antinociceptive effect of triterpenoid α,β -amyrin in rats on orofacial pain induced by formalin and capsaicin. *Phytomedicine*, 15, 8, 630–634, 2008.

HOLZER, P. Capsaicin: cellular targets, mechanisms of action, and selectivity for thin sensory neurons. *Pharmacological reviews*, 43, 143–201, 1991.

HONDA K; NOMA N; SHINODA M; MIYAMOTO M; KATAGIRI A; KITA D; LIU MG; SESSLE BJ; YASUDA M; TWATA K. Involvement of peripheral ionotropic glutamate receptors in orofacial thermal hyperalgesia in rats. *Molecular pain*, 7, 75, 2011.

- JULIUS, D.; BASBAUM, A. I. Molecular mechanisms of nociception. *Nature*, 413: 203-210, 2001.
- LE BARS D; GOZARIU M; CADDEN SW. Animal models of nociception. *Pharmacological Reviews*, 53(4), 597-652, 2001.
- LEMKE KA. Understanding the pathophysiology of perioperative pain. *Can Vet J. V.*, 45: 405-413, 2004.
- LEMONICA, L. Aspectos psicossociais da dor. *Âmbito Hospitalar*, 7, 27-28, 1997.
- LI JK; STROBEL G; HARPER J; LOBKOVSKY E; CLARDY J. Cryptocin, a potent tetramic antimycotic from the endophytic fungus *Cryptosporiopsis cf. quercina*. *Organ Letter*, 23: 767-770, 2000.
- LIU DZ; LIANG HJ; CHEN CH; SU CH; LEE TH; HUANG CT; HOU C; LIN SY; ZHONG WB; LIN PJ; HUNG LF; LIANG YC. Comparative anti-inflammatory characterization of wild fruiting body, liquid-state fermentation, and solid-state culture of *Taiwanofungus camphoratus* in micrologia and the mechanism of its action. *J Ethnopharmacol*, 113: 25-53, 2007.
- LOMBARDINO JG; LOWE JA. The role of the medicinal chemist in drug discovery-the and now. *Nat Rev Drug Disc*, 3: 853-862, 2004.
- LUCCARINI P; CHILDERIC A; GAYDIER AM; VOISIN D; DALLEL R. The orofacial formalin test in the mouse: a behavioral model for studying physiology and modulation of trigeminal nociception. *The journal of pain*, 7: 908-914, 2006.
- LUCENA PL; RIBAS FILHO JM; MAZZA M; CZECZKO NG; DIETZ UA; CORREA NETO MA; HENRIQUES GS; SANTOS OJ; CESCHIN AP; THIELE ES. Evaluation of the aroeira (*Schinus terebinyhifolius* Raddi) in the healing processo f surgical incision in the bladder of rats. *Acta Cir Bras*, 21: 46-51, 2006.
- MASUR, J.; MARTZ, R. M. W.; CARLINI, E. A. Effects of acute and chronic administration of *Cannabis sativa* and (-)9-trans tetrahydrocannabinol on the behaviour of rats in an open-field arena. *Psychopharmacology*, 19, 338-397, 1971.

MCCALL WD; TANNER KD; LEVINE EJD. Formalin induces biphasic activity in Cfibers in the rat. *Neurosci Lett*, 208, 45-48, 1996.

MILLAN MJ. The induction of pain: an integrative review. *Prog Neurobiol*, 57: 1-164, 1999.

MIRANDA HF; NORIEGA V; ZEPEDA RJ; SIERRALTA F; PRIETO JC. Synergism between fentanyl and tramadol in tonic inflammatory pain: the orofacial formalin test. *Inflammation*, 35:1132–1137, 2012.

MITTAL N; JOSHI R; HOTA D; CHAKRABARTI A; Evaluation of antihyperalgesic effect of curcumin on formalin-induced orofacial pain in rat. *Phytother Res*, 23: 507-512, 2009.

MOSSEY JM. Defining racial and ethnic disparities in pain management. *Clinical orthopaedics and related research*, 469, 1859–1870, 2011.

NIXDORF, DR; DRANGSHOLT MT; ETTLIN DA; GAUL C; DE LEEUW R; SVENSSON P; ZAKRZEWSKA JM; DE LAAT A; CEUSTERS W. Classifying orofacial pains: a new proposal of taxonomy based on ontology. *Journal of oral rehabilitation*, 39: 161–169, 2012.

OGOSHI A. Ecology and pathogenicity of anastomosis and intraespecific groups of *Rhizoctonia solani* Kühn. *Annual Review of Phytopathology*, 25, 125-143. 1987.

OHAYON, M. M. Specific characteristics of the pain/depression association in the general population. *The Journal of clinical psychiatry*, 65: 5–9, 2004.

OLIVEIRA MC; PARADA CA; VEIGA MC; RODRIGUES LR; BARROS SP; TAMBELI CH. Evidence for the involvement of endogenous ATP and P2X receptors in TMJ pain. *Eur. J. Pain* 9, 87–93, 2005.

PAIXÃO CC; SANTOS AA; OLIVEIRA CC; SILVA LG; NUNES MAR. Uso de plantas medicinais em pacientes portadores de afecções bucais . *Odonto Clin Científ*, 1: 81-86, 2002.

PARMETER JR; WHITNEY HS. Taxonomy and nomenclature of the imperfect state. In: Parmeter,

- J.R. (Ed.) *Rhizoctonia solani*, biology and pathology. London: University of California, 7- 19, 1970.
- PEDRAS MS; YU Y; LIU J; TANDRON-MOYA YA. Metabolites produced by the phytopathogenic fungus *Rhizoctonia solani*, chemical structure determination, syntheses and bioactivity. *Z Naturforsch*, 60: 712-722, 2005.
- PELLISIER T; PAJOR J; DALLE R. The orofacial capsaicin test in rats: effects of different capsaicin concentrations and morphine. *Pain* 96: 81-87, 2002.
- PETRINI O. Fungal endophyte of tree leaves. In: Andrews, J. and Hirano, S.S. eds. *Microbial ecology of leaves*. New York: Springer-Verlag, 179-197, 1991.
- PLEBAN S; CHERNIN L; CHET I. Chitinolytic activity of an endophytic strain of *Bacillus cereus*. *Letters in Applied Microbiology*, 25: 284-288, 1997.
- PULTRINI ADM; GALINDO LA; COSTA M. Effects of the essential oil from *Citrus aurantium* L. in experimental anxiety models in mice. *Life sciences*, 78, 1720–1725, 2006.
- QUINTANS JÚNIOR LJ; ALMEIDA JRGS; LIMA JT; NUNES XP, SIQUEIRA JS; OLIVEIRA LEG; ALMEIDA RN; ATHAYDE-FILHO PF; BARBOSA-FILHO JM. Plants with anticonvulsant properties: a review. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 18, 798–819, 2008.
- QUINTANS-JÚNIOR L; DA ROCHA RF; CAREGNATO FF; MOREIRA JCF; SILVA FA; ARAUJO AAS; SANTOS JPA; MELO MS; DE SOUSA DP; BONJARDIM LR; GELAIN DP. Antinociceptive action and redox properties of citronellal, an essential oil present in lemongrass. *Journal of medicinal food*, 14, 630–639, 2011.
- QUINTANS-JÚNIOR LJ; MELO MS; DE SOUSA DP; ARAUJO AA; ONOFRE AC; GELAIN DP; GONÇALVES JC; ARAÚJO DA; ALMEIDA JRGS; BONJARDIM LR. Antinociceptive effects of citronellal in formalin-, capsaicin-, and glutamate-induced orofacial nociception in rodents and its action on nerve excitability. *Journal of orofacial pain*, 24, 305–312, 2010.
- RABOISSON P; DALLEL R. The orofacial formalin test. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 28, 219–226, 2004.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; FLOWER, R. J. *Farmacologia* 6^a Ed. Rio de Janeiro, 848, 2007.

RAJA, S. N.; MEYER, R. A.; CAMPBELL, J. N. Peripheral mechanisms of somatic pain. *Anesthesiology*, 68, 571–590, 1988.

RICHARDSON DHS. War. In the world of lichens: parasitism an simbiosis as exemplified by lichens and lichenicolous fungi. *Mycological Research*, 103: 641-650, 1999.

RO JY. Contribution of peripheral NMDA receptors in craniofacial muscle nociception and edema formation. *Brain Research*, 979, 78–84, 2003.

RODRIGUES LL; OLIVEIRA MC; PELEGRINI-DA-SILVA A; DE ARRUDA VEIGA MC; PARADA CA; TAMBELI CH. Peripheral sympathetic component of the temporomandibular joint inflammatory pain in rats. *J. Pain* 7, 929–936, 2006.

ROVERONI RC; PARADA CA; CECILIA M; VEIGA FA; TAMBELI CH. Development of a behavioral model of TMJ pain in rats: the TMJ formalin test. *Pain* 94, 185–191, 2001.

REN, K.; DUBNER, R. Descending modulation in persistent pain: an update. *Pain*, 100: 1-6, 2002.

SANTOS AR; CALIXTO JB. Further evidence for the involvement of tachykinin receptor subtypes in formalin and capsaicin models of pain in mice. *Neuropeptides*, 31, 381-389, 1997.

SBED – SOCIEDADE BRASILEIRA PARA O ESTUDO DA DOR. *Jornal Dor* 18, 2, 2005.

SESSLE, B. J. Acute and chronic craniofacial pain: brainstem mechanisms of nociceptive transmission and neuroplasticity, and their clinical correlates. *Critical reviews in oral biology and medicine*, 11, 57–91, 2000.

SESSLE, B. J. Peripheral and central mechanisms of orofacial pain and their clinical correlates. *Minerva anestesiológica*, 71, 117–136, 2005.

SNEH B; BURPEE L; OGOSHI A. Identification of *Rhizoctonia solani* species. Minnesota: USA. APS Press, 1991.

SRINIVASAN K; MURUGANANDAN S; LAL J; CHANDRA S; TANDAN SK; RAVI PRAKASH V. Evaluation of anti-inflammatory activity of *Pongamia pinnata* leaves in rats. *Journal of ethnopharmacology*, 78, 151–157, 2001.

STALPERS J; ANDERSEN TF. A synopsis of the taxonomy of teleomorphs connected with *Rhizoctonia* S. L. In: Sneh, B., Jabaji-Hare, S., Neate, S. & Dijst, G. (eds.) *Rhizoctonia species: Biology, Ecology, Pathology and Disease Control*. Dordrecht, Netherlands. Kluwer Academic Publishers, 37-47, 1996.

TAKEMURA M; SUGIYO S; MORITANI M; KOBAYASHI M; YONEHARA N. Mechanisms of orofacial pain control in the central nervous system. *Archives of histology and cytology*, 69(2), 79–100, 2006.

TJOLSEN A; BERGE S; HUNSKAAR JH; ROSLAND K. The formalin test: an evaluation of the method. *Pain*, 51, 5-17, 1992.

TREEDE RD; KENSHALO DR; GRACELY RH. The cortical representation of pain. *Pain*, 79: 105-111, 1999.

VANEGAS, H.; SCHAIBLE, H. Descending control of pain: inhibitory or facilitatory? *Brain Research Reviews*, 46: 295-309, 2004.

VILELA-FILHO, O. Dor: anatomia funcional, classificação e fisiopatologia. *Jovem Médico*, 2, 125-132, 1998.

VILLARREAL CF; SACHS D; FUNEZ MI; PARADA CA; CUNHA FQ; FERREIRA SH. The peripheral pro-nociceptive state induced by repetitive inflammatory stimuli involves continuous activation of protein kinase A and protein kinase C epsilon and its Na(V)1.8 sodium channel functional regulation in the primary sensory neuron. *Biochem. Pharmacol.*, 77(5): 867- 77, 2009.

XU B; DESCALZI G; YE HR; ZHUO M; WANG YW. Translational investigation and treatment of

neuropathic pain. *Molecular pain*, 8, 15, 2012.


WINK M. Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. *Phytochemistry*, 64: 3-19, 2003.

WOOLF, C. J. Pain. *Neurobiology of Disease*, 7, 504-510, 2000.

WOOLF, C. J.; SALTER, M. W. Neuronal plasticity: increasing the gain in pain. *Science*, 288: 1765-1768, 2000.

YUNES RA; CALIXTO JB. Plantas medicinais sob a ótica da Química medicinal Moderna. Editora Argos, Chapecó, 528, 20-24, 2001.

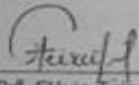
ANEXO 1: PROTOCOLO DE APROVAÇÃO NO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA ANIMAL DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

 **UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
COORDENAÇÃO DE PESQUISA
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM ANIMAIS (CEPA)

DECLARAÇÃO

Declaro, para os devidos fins, que o Projeto de Pesquisa intitulado
"AVALIAÇÃO DA POSSÍVEL AÇÃO ANTI-
INFLAMATÓRIA, ANTI-HIPERNOCICEPTIVA E DOS
MACANISMOS DE AÇÃO CENTRAL DO CYCLO-GLY-
PRO", sob coordenação do Prof. Dr. WALDECY DE LUCCA
JUNIOR (protocolo CEPA 82/2012) foi aprovado pelo Comitê
de Ética em Pesquisa com Animais da Universidade Federal de
Sergipe, em reunião realizada dia 06/06/2013.

São Cristóvão, 13 de junho de 2013.



Prof.^a Dr.^a Flávia Teixeira Silva
Presidente do CEPA/UFS

Cidade Universitária "Prof. Aloísio de Campos"
Jardim Rosa Elze - São Cristóvão - SE
49100-000
Fones: 3212 6661/6606

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

B238a Barbosa, Breno Ferreira
Ação antinociceptiva do cyclo(gly-pro) sobre a dor orofacial em
roedores / Breno Ferreira Barbosa ; orientador Waldecy de Lucca
Júnior. – Aracaju, 2014.
44 f. : il.

Dissertação (mestrado em Odontologia)– Universidade Federal
de Sergipe, 2014.

1. Dor orofacial. 2. Dor. 3. *Rhizoctonia*. I. Lucca Júnior,
Waldecy de, orient. II. Título.

CDU 616.314-009.7